

# 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 瑞 木 匡

主論文 1 編

Luteolin attenuates interleukin-6-mediated astrogliosis in human iPSC-derived neural aggregates: A candidate preventive substance for maternal immune activation-induced abnormalities.  
Neuroscience Letters 653:296-301, 2017

## 審 査 結 果 の 要 旨

妊娠中の母体感染は、出生児における自閉スペクトラム症などの発達障害や、統合失調症などの精神疾患の発症リスクを上昇させることが知られている。過去の動物実験からは、胎盤を通じて移行した母体の炎症性サイトカイン、特に Interleukin-6 (IL-6) が胎児脳に悪影響を及ぼすと考えられているが、ヒト由来組織を用いた検討はない。そこで申請者は、ヒト iPSC 細胞から分化誘導した胎児脳モデルを作成し、IL-6暴露が脳の発達へ与える影響について *in vitro* で検討した。更に本モデルを用いて、IL-6暴露による胎児脳障害を低減する物質の探索を行った。

申請者は、健康人由来iPS細胞株 (409B2) を神経外胚葉に分化誘導し、神経凝集体を作成した。この神経凝集体が、胎児脳の発生を模倣していることを確認する為、定量的RT-PCR法で神経系マーカーの発現推移を検討した。その結果、脳発生と同じく、初期には神経幹細胞マーカー (PAX6)、次に神経細胞マーカー (MAP2,  $\beta$ -III tubulin)、最終的にアストロサイトマーカー (GFAP, GLT1, GLAST) が強く発現していたことから、この神経凝集体は胎児脳モデルとして妥当であると考えた。次に申請者は、培養51日目の神経凝集体にIL-6を24時間暴露させた後、60日目まで培養を継続し、対照群 (IL-6非暴露) との比較検討を行った。凍結切片の免疫染色により、IL-6暴露群ではGFAP陽性アストロサイトが有意に増加し、TBR1およびCTIP2陽性神経細胞が有意に減少していた。また、Western blot法によりIL-6暴露群ではリン酸化STAT3の増加を認めた。更に申請者は、このIL-6による変化を低減する候補物質としてポリフェノールの一種であるルテオリンに着目した。IL-6にルテオリンを同時添加すると、濃度依存的にリン酸化STAT3を減少させた。しかし、高濃度 (40 $\mu$ M, 80 $\mu$ M) のルテオリン添加は、アポトーシスを引き起こすとも確認されたため、最後に低濃度 (10 $\mu$ M, 20 $\mu$ M) のルテオリン添加による分化異常の改善効果を検討した。その結果、ルテオリンがIL-6によりもたらされる神経分化異常を改善させることを見出した。以上の結果から、母体のルテオリン摂取は、母体炎症による胎児脳障害を軽減し、発達障害や精神疾患の発症リスクを低減させる可能性が示唆された。

以上が本論文の要旨であるが、母体炎症による胎児脳障害の機序の一部を初めてヒト神経系細胞を用いて解明し、更に母体が経口摂取可能な物質でその脳障害を抑制できる可能性を明らかにした点で、医学上価値ある研究と認める。

平成 30 年 1 月 18 日

審査委員	教授	伊 東 恭 子	㊞
審査委員	教授	水 野 敏 樹	㊞
審査委員	教授	八 木 田 和 弘	㊞